



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2014년02월11일  
 (11) 등록번호 10-1361577  
 (24) 등록일자 2014년02월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
 A61B 5/00 (2006.01) A61B 5/01 (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2012-0097354  
 (22) 출원일자 2012년09월03일  
 심사청구일자 2012년09월03일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 JP05003873 A  
 JP05003878 A  
 JP2582957 B2

(73) 특허권자  
 서울대학교산학협력단  
 서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)  
 (72) 발명자  
 김경진  
 서울특별시 마포구 마포대로 109 롯데캐슬프레지  
 던트 102동 1402호  
 박노현  
 서울특별시 관악구 복은길 62 306호  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
 이종승, 권형중, 특허법인 남앤드남, 김문재

전체 청구항 수 : 총 10 항

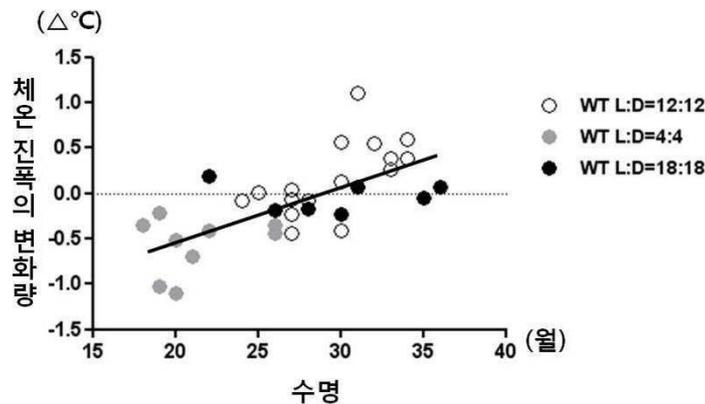
심사관 : 최석규

(54) 발명의 명칭 **생체시계 교란을 판단하는 방법**

**(57) 요약**

본 발명은 생체시계 교란을 판단하는 방법에 관한 것으로, 본 발명을 통하여 생체 주기 변화에 따른 체온의 진폭 변화, 활동 양 변화, 음식 섭취 양 변화, 체중 변화 또는 활동 양의 진폭 변화로부터 생체 시계의 교란 여부를 판단하며, 이를 통하여 건강에 악 영향을 미쳐서 수명을 단축시킬 가능성 여부를 예측할 수 있다.

**대표도** - 도6



(72) 발명자

**천솔미**

서울특별시 관악구 신림로3가길 33 302호

**손기훈**

서울특별시 용산구 한강대로 115 대우디오빌 1003호

**조세형**

서울특별시 동대문구 제기로 131 한신아파트 101동 1203호

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

체온의 진폭( $A_{T0}$  및  $A_{T1}$ ) 및 생체 주기( $C_0$  및  $C_1$ )로부터, 생체시계 교란 여부를 판단하는 방법으로서,  
 $C_1$  에서의 체온의 진폭  $A_{T1}$  이  $C_0$ 에서의 체온의 진폭  $A_{T0}$ 와 비교하여,  $A_{T1} < A_{T0}$  인 경우, 생체시계가 교란된 것으로 판단하는 단계를 포함하는, 생체시계 교란 여부를 판단하는 방법:  
 상기  $C_0$ 는 보통의 생체 주기(명기+암기=24시간)이고,  $C_0 \neq C_1$  이다.

### 청구항 2

제 1항에 있어서,  
 $A_{T1} \leq 0.9 \times A_{T0}$ 이면 생체시계가 교란된 것으로 판단하는 것을 특징으로 하는, 생체시계 교란 여부를 판단하는 방법.

### 청구항 3

제 1항에 있어서,  
 생체 시계 교란은 광 주기(LD cycle, light dark cycle) 교란에 의한 것을 특징으로 하는, 생체시계 교란 여부를 판단하는 방법.

### 청구항 4

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서,  
 활동 양( $A_0$  및  $A_1$ ), 음식 섭취 양( $I_0$  및  $I_1$ ) 및 체중( $W_0$  및  $W_1$ )을 추가로 더 포함하여 생체시계 교란 여부를 판단하는 방법으로서,  
 $C_1$  에서의 활동 양  $A_1$  이  $C_0$ 에서의 활동 양  $A_0$ 와 비교하여,  $A_1 < A_0$ ;  
 $C_1$  에서의 음식 섭취 양  $I_1$  이  $C_0$ 에서의 음식 섭취 양  $I_0$ 와 비교하여,  $I_1 > I_0$ ; 및  
 $C_1$  에서의 체중  $W_1$  이  $C_0$ 에서의 체중  $W_0$ 와 비교하여,  $0.9 \times W_0 < W_1 < 1.1 \times W_0$  이면 생체시계가 교란된 것으로 판단하는 것을 특징으로 하는, 생체시계 교란 여부를 판단하는 방법.

### 청구항 5

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항에 있어서,  
 활동 양의 진폭( $A_{A0}$  및  $A_{A1}$ )을 더 포함하여 생체시계 교란 여부를 판단하는 방법으로서,  
 $C_1$  에서의 활동 양의 진폭  $A_{A1}$  이  $C_0$ 에서의 활동 양의 진폭  $A_{A0}$ 와 비교하여,  $A_{A1} < A_{A0}$  인 경우, 생체시계가 교란된 것으로 판단하는 것을 특징으로 하는, 생체시계 교란 여부를 판단하는 방법.

### 청구항 6

제 5항에 있어서,

$A_{A1} \leq 0.9 \times A_{A0}$ 이면 생체시계가 교란된 것으로 판단하는 것을 특징으로 하는, 생체시계 교란 여부를 판단하는 방법.

### 청구항 7

체온의 진폭( $A_{T0}$  및  $A_{T1}$ ) 및 생체 주기( $C_0$  및  $C_1$ )로부터, 발병 (發病)을 예측하는 방법으로서,

(a)  $C_1$  에서의 체온의 진폭  $A_{T1}$  이  $C_0$ 에서의 체온의 진폭  $A_{T0}$ 와 비교하여,  $A_{T1} < A_{T0}$  인 경우, 생체시계가 교란된 것으로 판단하는 단계를 포함하는, 발병을 예측하는 방법:

상기  $C_0$ 는 보통의 생체 주기(명기+암기=24시간)이고,  $C_0 \neq C_1$  이다.

### 청구항 8

삭제

### 청구항 9

삭제

### 청구항 10

삭제

### 청구항 11

제 7항에 있어서,

(a) 단계는 활동 양( $A_0$  및  $A_1$ ), 음식 섭취 양( $I_0$  및  $I_1$ ) 및 체중( $W_0$  및  $W_1$ )을 추가로 더 포함하여 생체시계 교란 여부를 판단하고,

$C_1$  에서의 활동 양  $A_1$  이  $C_0$ 에서의 활동 양  $A_0$ 와 비교하여,  $A_1 < A_0$ ;

$C_1$  에서의 음식 섭취 양  $I_1$  이  $C_0$ 에서의 음식 섭취 양  $I_0$ 와 비교하여,  $I_1 > I_0$ ; 및

$C_1$  에서의 체중  $W_1$  이  $C_0$ 에서의 체중  $W_0$ 와 비교하여,  $0.9 \times W_0 < W_1 < 1.1 \times W_0$  이면 생체시계가 교란된 것으로 판단하는 것을 특징으로 하는, 발병을 예측하는 방법.

### 청구항 12

제 7항에 있어서,

(a) 단계는 활동 양의 진폭( $A_{A0}$  및  $A_{A1}$ )을 더 포함하여 생체시계 교란 여부를 판단하고,

$C_1$  에서의 활동 양의 진폭  $A_{A1}$  이  $C_0$ 에서의 활동 양의 진폭  $A_{A0}$ 와 비교하여,  $A_{A1} < A_{A0}$  인 경우, 생체시계가 교란된 것으로 판단하는 것을 특징으로 하는, 발병을 예측하는 방법.

### 청구항 13

제 12항에 있어서,

$A_{A1} \leq 0.9 \times A_{A0}$ 이면 생체시계가 교란된 것으로 판단하는 것을 특징으로 하는, 발병을 예측하는 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 생체시계 교란을 판단하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 포유동물에서 빛에 의한 정보는 망막시상하부 경로(retino-hypothalamic tract, RHT)를 통하여 시신경교차상핵(suprachiasmatic nucleus, SCN)으로 전달된다. SCN은 일련의 생체시계 유전자의 전사-번역 피드백 루프로 구성된 내재적 분자 시계 메커니즘을 갖는다. CLOCK(circadian locomotor output cycles kaput) 및 BMAL1 (brain and muscle ARNT-like protein 1)은 E-box (CACGTG)에 결합하여 *Per1/2* 및 *Cry1/2* 유전자의 발현을 활성화시킨다. 또한 발현된 PER1/2 및 CRY1/2는 CLOCK: BMAL1 활성을 억제시킴으로서 처음의 시작점으로 돌아가도록 한다. 외부 환경의 명-암(Light-dark, LD) 주기에 의해 결정되는 외부시계에 의한 자극과 생체내부 시계의 정보를 바탕으로 SCN은 통합된 시간의 산출 신호를 생산하고, 각 신체부위에 존재하는 말초시계를 조절한다. 따라서, 생리적, 활동적 주기는 생체 시계 및 외부 환경의 명-암주기(LD 사이클)에 의한 종합적인 결과물이다.

[0003] 생체 내부 시계와 환경적인 LD 사이클은 정상적인 경우 같은 주기로 나타나지만 이 주기가 흐트러지면 사람 및 쥐에서 다양한 병리학적 결과가 나타나는 것으로 보고되어 왔다. 또한 최근 연구에서는 LD 사이클의 특정 조건에서는 대사 및 비만에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다. 그럼에도 불구하고, 생체시계 교란 그 자체가 건강에 해가 되는지, 혹은 특정 LD 사이클이 특정 질병에 대해서 취약하게 만드는지에 대해서는 밝혀진 바가 거의 없다.

[0004] 생체시계 교란의 생리학적 의미는 유전학적 변이체 연구를 통하여 유추될 수 있다. *Bmal1*, *Clock*, 및 *Periods*와 같은 생체 시계 유전자가 결여된 변이체는 리듬을 잃는 것뿐 아니라 조기 노화, 비만 및 암에 대한 민감성이 증가된다는 것이 보고되었다. 그러나 이러한 표현형은 변이 마우스간에 공통적으로 나타나지 않았고, 생체시계의 조절과 관계없이 조직 특이적으로 회복되기도 하였다. 따라서 생리적, 활동적 변화가 특정 주기 유전자 때문인지 혹은 리듬의 변화로 인한 간접적 영향인지는 여전히 구체적으로 밝혀지지 않고 있다.

[0005] 지금까지의 연구는 정상적인 생체 내부 시계를 가지는 동물에 LD 사이클을 조작하거나 생체 시계 유전자가 망가진 동물에 일반적인 LD 사이클을 적용하여 관찰하는 것에 초점을 맞춰왔다. 그러나 생체시계 교란이 미치는 생리적인 영향을 명확히 이해하기 위해서는 이들의 상호 작용뿐 아니라, 생체 내부 시계 및 LD 사이클의 각각의 역할에 대하여 결정하는 것이 필요하다.

[0006] 또한, 현대사회에서는 잦은 장거리 이동이나 교대 근무 등으로 생체시계가 교란되는 사람들이 점진적으로 증가하고 있어, 이 경우에 각 개인은 생체시계 변화를 미리 인지하고 이를 바탕으로 생체시계의 교란에서 오는 위험성을 적절히 판단하고 대처하는 것이 방안이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 생체시계 교란을 판단하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 체온의 진폭( $A_{T_0}$  및  $A_{T_1}$ ) 및 생체 주기( $C_0$  및  $C_1$ )로부터, 생체시계 교란을 판단하는 방법으로서,  $C_1$ 에서의 체온의 진폭  $A_{T_1}$  이  $C_0$ 에서의 체온의 진폭  $A_{T_0}$ 와 비교하여,  $A_{T_1} < A_{T_0}$  인 경우, 생체시계가 교란된 것으로 판단하는 방법을 제공하며, 상기  $C_0$ 는 보통의 생체 주기(명기+암기=24시간)이고,  $C_0 \neq C_1$  이다.

[0009] 본 발명의 일 실시예에서  $A_{T_1} \leq 0.9 \times A_{T_0}$ 이면 생체시계가 교란된 것이고, 본 발명의 일 실시예에서 상기 생체

주기는 광 주기(LD cycle, light dark cycle)이다.

- [0010] 본 발명의 일 실시예에서, 활동 양( $A_0$  및  $A_1$ ), 음식 섭취 양( $I_0$  및  $I_1$ ) 및 체중( $W_0$  및  $W_1$ )을 추가로 더 포함하여 생체시계 교란을 판단하는 방법으로서,  $C_1$ 에서의 활동 양  $A_1$ 이  $C_0$ 에서의 활동 양  $A_0$ 와 비교하여,  $A_1 < A_0$ ;  $C_1$ 에서의 음식 섭취 양  $I_1$ 이  $C_0$ 에서의 음식 섭취 양  $I_0$ 와 비교하여,  $I_1 > I_0$ ; 및  $C_1$ 에서의 체중  $W_1$ 이  $C_0$ 에서의 체중  $W_0$ 와 비교하여,  $0.9 \times W_0 < W_1 < 1.1 \times W_0$  이면 생체시계가 교란된 것으로 판단하는 방법을 제공한다.
- [0011] 본 발명의 일 실시예에서, 활동 양의 진폭( $A_{A0}$  및  $A_{A1}$ )을 더 포함하여 생체시계 교란을 예측하는 방법으로서,  $C_1$ 에서의 활동 양의 진폭  $A_{A1}$ 이  $C_0$ 에서의 활동 양의 진폭  $A_{A0}$ 와 비교하여,  $A_{A1} < A_{A0}$  인 경우, 생체시계가 교란된 것으로 판단하고, 본 발명의 일 실시예에서  $A_{A1} \leq 0.9 \times A_{A0}$ 이면 생체시계가 교란된 것으로 판단하는 방법을 제공한다.
- [0012] M Garaulet, 등의 “The chronobiology, etiology and pathophysiology of obesity”, International Journal of Obesity (2010) 34, 1667-1683 및 Haus E 와 Smolensky M의 “Biological clocks and shift work: circadian dysregulation and potential long-term effects”, Cancer Causes Control. (2006) 17, 489-500 에 따르면, 교대 근무, 수면 손실 또는 밤 동안 빛의 조사 등으로 인하여 생체시계가 교란될 수 있으며, 생체시계가 교란되는 경우, 조로증, 암, 심혈관계 질환, 비만, 인지 장애 및 기분 장애 등이 발병될 수 있다. 생체시계의 리듬이 깨지면 기대 수명이 줄어들게 되고, 생체시계의 교란으로 인하여 유방암, 자궁내막암, 전립선암, 결장암 또는 흑색종 등의 암 발병이 촉진된다. 또한, 생체시계 교란으로 인하여 비만 및 대사 증후군이 유발되며, 계절성 우울증, 주 우울증 또는 불면증과 같은 기분 장애 등이 발생할 수 있고, 알츠하이머병, 혈관성 치매 또는 파킨슨병과 같은 인지 장애를 악화시킬 수 있다.
- [0013] 본 발명의 명세서에서 사용하는 '생체 주기'란 피험체 또는 피험자가 속하는 환경에 있어서 광량, 온도 또는 습도와 같은 인자의 변화에 대한 주기의 최소 단위를 의미하며, 시간, 분 또는 초 단위로 표현된다.
- [0014] 본 발명의 명세서에서 사용하는 '광주기'란 명기, 암기 또는 명기 및 암기로 구성되는 빛의 변화에 대한 주기의 최소 단위를 의미하며, 명기는 350 lux 이상의 빛, 암기는 0.5 lux 이하의 빛이 조사되는 상태이다.
- [0015] 본 발명의 명세서에서 사용하는 '광주기 민감성'이란 광 주기의 변화에 대한 신체의 수용 능력에 관한 척도로써, 광주기 민감성이 있다는 것은 광 주기의 변화에 용이하게 적응하지 못하는 것을 의미한다.
- [0016] 본 발명의 명세서에서 사용하는 '체온의 진폭'이란 한번의 광주기 동안의 최고 체온 및 최저 체온의 차이를 의미한다.
- [0017] 본 발명의 명세서에서 사용하는 '활동 양'이란 한번의 광주기 동안 피험체 또는 피험자가 움직인 양 또는 거리를 의미한다.
- [0018] 본 발명의 명세서에서 사용하는 '음식 섭취 양'이란 한번의 광주기 동안 피험체 또는 피험자가 섭취한 음식의 질량 또는 칼로리 양을 의미한다.
- [0019] 본 발명의 명세서에서 사용하는 '활동 양의 진폭'이란 한번의 광주기 중, 단위 시간 동안 피험체 또는 피험자가 움직인 양의 최대 값 및 최소 값의 차이의 1/2을 의미한다.

**발명의 효과**

- [0020] 본 발명을 통하여, 생체 주기의 변화에 따른 체온의 진폭 변화, 활동 양 변화, 음식 섭취 양 변화, 체중 변화 또는 활동 양의 진폭 변화로부터 생체시계의 교란 여부를 판단하며, 이를 통하여 여러 질병이 발병할지 여부를 예측할 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0021] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 LD 사이클의 조작 과정을 나타낸 것이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 야생형 마우스 및 생체시계유전자가 결여된 PDK 마우스의 챗바퀴 굴리기의

양상(A), 고점 시각(B), 쳃바퀴 굴린 양(C) 및 진폭(D)을 나타낸 그래프이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 야생형 마우스 및 PDK 마우스의 체온 변화에 있어서 체온의 양상(A), 고점 시각(B), 평균 체온(C) 및 진폭의 변화(D)를 나타낸 그래프이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 야생형 마우스 및 PDK 마우스의 체중의 양상(A, B), 최고 체중(C) 및 음식물 섭취 양(D)을 나타낸 그래프이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 야생형 마우스 및 PDK 마우스의 월령에 따른 생존율(A, B) 및 수명(C)을 나타낸 그래프이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 야생형 마우스의 생체 주기 교란에 따른 체온의 진폭 변화와 수명의 상관관계를 나타낸 그래프이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0022] 이하, 본 발명의 구성요소와 기술적 특징을 다음의 실시예들을 통하여 보다 상세하게 설명하고자 한다. 그러나 하기 실시예들은 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 발명의 범위가 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0023] **실시예 1. 사육 환경**

[0024] **1.1 실험 동물**

[0025] 서울대학교 실험 동물 센터로부터 C57BL/6 쥐(mice)를 입수하였다.  $Per1^{-/-} Per2^{-/-}$  (PDK; *Period 1* and *Period 2* double knockout) 쥐는 D.R.Weaver 박사(University of Massachusetts Medical School, Worcester, MA, 미국)로부터 입수하였으며, 상기 생쥐는 멜라토닌을 합성할 수 있는 효소가 결여된 C57BL/6 쥐와 6세대 동안 역교잡하고, 무균 성장 시켰다. 실험적인 설정을 위하여 암컷과 수컷 쥐는 분리시켜 사육하였다. PDK 쥐는  $Per1^{+/-} Per2^{+/-} \times Per1^{+/-} Per2^{-/-}$ 로부터 선택되었고, 야생형(WT) 쥐는  $Per1^{+/+} Per2^{+/-} \times Per1^{+/-} Per2^{+/+}$ 로부터 선택되었다. 유전형은 4주령에 결정하였다.

[0026] **1.2 생육 조건**

[0027] 유전형이 선택된 후, 수컷 쥐를 일반적인 사육 시설에 옮겨졌고, Nalgene(Nalge Nunc, Rochester, NY, 미국) 우리에서 1마리씩 생육시켰다. 모든 쥐는 방음시설이 된 독립된 공간에서 22°C~23°C 및 50%±10%의 습도 조건으로 사육되었다. 빛은 오전 8:00 부터 오후 20:00까지(L:D=12시간:12시간) 켜졌다. 조명은 32-W의 색 온도가 낮은 백 형광 전구를 사용하였고, 우리의 바닥에 350lux가 되도록 설치되었으며, 암기(scotophase)에는 빛을 완전히 차단시켰다(0.5 lux 미만). 우리에는 톱밥(North Eastern Products Corporation, Warrenburg, NY, 미국)을 깔았고, 쥐 사료(Purina #38057, Cargill Agri Purina, Inc., Seoul, 한국) 및 수돗물(tap water)을 공급하였다.

[0028] **실시예 2. 실험 대상군 및 조건의 조작**

[0029] 전반적인 실험 방법은 도 1에 도시된 바와 같다. 생체 주기의 교란을 주기 위하여 3가지 다른 낮밤주기(T 사이클)를 적용하였으며, 정상은 T=24시간, L:D=12시간:12시간이고, 단주기는 T=8시간, L:D=4시간:4시간이며, 장주기는 T=36시간, L:D=18시간:18시간으로 하였다. 수컷 야생형 쥐 및 PDK 쥐를 12:12 LD 주기로 10일간 사육하고, 이후 10일간은 암기(DD)로만 사육하였으며, 그 후 T 사이클을 조작하였다.

[0030] T 사이클 조작 첫 주에 쳃바퀴 굴리기 및 체온 리듬을 통하여 생체 주기가 교란되는지 여부를 평가하였다. T 사이클로 인한 후유증(aftereffect)은 조작 후 3달이 지난 시점에 평가하였다. 최종적으로, 생체 주기의 교란이 일생에 미치는 영향은 체중, 음식 섭취 등을 통하여 평가하였으며, 내재적 생체 시계(endogenous clock)의 역할을 평가하기 위하여, 야생형 쥐와 생체 시계가 결핍된 PDK 쥐를 비교하였다.

[0031] **실시예 3. 생체 주기 교란 후 1주의 쥐의 활동량 및 체온**

[0032] 7주령에 원격 탐침(telemetric probe, E-mitter; Mini-Mitter, Bend, OR, 미국)을 Son, G.H., *et al*, 2008. Adrenal peripheral clock controls the autonomous circadian rhythm of glucocorticoid by causing rhythmic steroid production. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 105, 20970-20975에서와 같은 방법으로 이식하였다. 회복기간 1주일 후, 쳃바퀴 굴리기 및 체온을 ER-4000 장비(Mini-Mitter)를 이용하여 6분 간격으로 측정하였다. 고점(acrophase)은 동조화(entrainment) 단계 (L:D=12시간:12시간) 의 10일간의 결과를 코사인 함수 피팅 분석(cosinor fitting analysis)을 통하여 결정되었으며, FRP(free running period)는 암기(DD) 조건에서 10일 동안 진동 프로필을 통해 결정되었다. 주기의 진폭은 데이터를 코사인 함수에 피팅한 후에 결정하였다. 체온의 변화 주기의 진폭은 각각의 체온 사이클에서 최저-최고 플롯의 선형 회기를 통해 추론하였다.

[0033] 야생형 쥐 및 PDK 쥐 모두, 10일 간의 동조화 기간 동안 강한 규칙적인 활동 양상을 보였다. 12:12 LD 사이클에서 상기 2 종류의 유전형을 가진 쥐의 주요한 차이는 고점시각이 앞당겨 졌다는 점(야생형=15.98±0.20, PDK=15.08±0.19, n=14, p < 0.05, Student t test)과 하루 동안 쳃바퀴 굴리는 활동 양이 현저하게 줄어들었다는 점이다. 그러나, 쥐가 암흑기(DD)에 있을 때는 야생형 쥐만 그들의 내재성 24시간 주기 리듬을 유지하였고, PDK 쥐는 종래에 보고된 바와 같이(Bae et al., 2001) 24시간 주기 리듬을 상실하였다.

[0034] **3.1 쳃바퀴 굴리기**

[0035] 정상 주기(T=24h)에서는 도 2 A의 왼쪽 그림과 같이, 두 가지 유전형 모두에서 동조화 기간과 같은 쳃바퀴 굴리기 활동 양을 보였다. 단 주기(T=8h)에서 야생형 쥐는 처음에는 그들의 24시간 주기 리듬을 유지하였으나, 이후에는 이전의 밤 시간에 해당하는 4시간의 광 노출에 의하여 분리된 2번의 4시간 단위의 쳃바퀴 굴리기 활동을 보였다. 그러나, 대부분의 야생형 쥐(20마리 중 17마리)는 단주기 적용 후 10일이 지났을 때 활동성이 약해졌고, 단주기가 적용된지 15일정도가 지났을 때 8시간의 위상 지연이 나타났다. 이러한 8시간 위상 변동은 약 15일이 지날 때 마다 반복되었다. 단 주기에서 나머지(24시간에 가까운 긴 FRP를 보인 20마리 중 3마리)의 쥐는 다른 위상 지연의 현상이 아닌 2차례의 활동을 오랫동안 나타냈다. 그러나 이와 같은 리듬유지 현상은 우리 청소와 같은 다른 자극에 의해서 교란되었다. 반면, PKD 쥐는 쳃바퀴 굴리기 활동에 있어서 3일만에 단주기에 적응하였고, 암기에 확실한 활동성을 보였다.

[0036] 장주기에서는 PDK 쥐뿐만 아니라 야생형 쥐도 종래 보고된 바와 같이(Goff and Finger, 1966) 36시간의 활동 리듬을 보였으며, 이는 도 2 A의 오른쪽에 72시간 주기의 활동 그래프(actogram)에서 보다 명확히 볼 수 있다. 그러나 PDK 쥐와는 다르게, 야생형 쥐는 길어진 T 사이클 조건에서 활동양상은 매일 다르게 나타났고, 이를 통하여 24시간 주기 생체 시계 및 18시간 동안의 빛에의 노출에 의한 차폐효과가 서로 영향을 주는 것을 알 수 있었다. 주기 조작 후 10일이 지났을 때 나타나는 활동 그래프는 그 이후의 연구기간 동안 계속 유지되었다. 야생형 쥐에서 주기의 혼란의 범위는 T 사이클의 주기에 따라 상당히 다르게 나타났는데, 도 2C 및 2D에 도시된 바와 같이, 단주기에서 하루 동안의 쳃바퀴 활동 양 및 활동의 진폭(amplitude)은 급격하게 감소하였으나, 장주기에서 활동의 진폭은 아니지만 총 활동 양은 영향을 받았다. 반면 PDK 쥐에서는 총 활동 양 뿐 아니라 진폭에서 모두 영향을 받지 않았다.

[0037] 이를 종합하여 볼 때, 이러한 결과는 PDK 쥐의 활동성 리듬은 강요된 암기에 단순히 조화되지만, 야생형 쥐는 24시간이 아닌 T 사이클이 적용된다면 점차적으로 그들의 규칙성을 유지할 수 없게 됨을 보여 주었다. 생체 주기의 교란은 짧은 T 사이클에서, 특히 진폭의 경우에 더 심각하게 나타났고, 이원 분산분석(Two-way ANOVA(analysis of variance))은 또한 야생형 쥐의 총 활동 양 및 진폭은 생체 시계(유전형) 및 T 사이클의 상호작용의 결과임을 나타내었다.

표 1

[0038]

생리적 지표	인자(Factors)		
	생체 시계의 기능(유전형)	T 사이클	상호 작용(Interaction)
쳃바퀴 굴리기			
총 활동 양	F(1,75)=0.895; <sup>ns</sup> p=0.347	F(2,75)=5.620; **p=0.005	F(2,75)=4.380; *p=0.016
진폭	F(1,73)=0.731; <sup>ns</sup> p=0.119	F(2,73)=5.329; **p=0.007	F(2,73)=3.195; *p=0.047
체온			
평균값	F(1,45)=0.025; <sup>ns</sup> p=0.876	F(2,45)=1.241; <sup>ns</sup> p=0.299	F(2,45)=0.084; <sup>ns</sup> p=0.919
진폭 변화	F(1,47)=2.413; <sup>ns</sup> p=0.127	F(2,47)=7.140; **p=0.002	F(2,47)=3.851; *p=0.028

체중	$F(1,69)=13.36$ ; *** $p<0.001$	$F(2,69)=9.974$ ; *** $p<0.001$	$F(2,69)=1.086$ ; ns $p=0.343$
음식 섭취 양	$F(1,44)=85.16$ ; *** $p<0.001$	$F(2,44)=14.23$ ; *** $p<0.001$	$F(2,44)=0.753$ ; ns $p=0.477$
수명	$F(1,130)<33.83$ ; *** $p<0.001$	$F(2,130)=4.096$ ; * $p=0.019$	$F(2,130)=4.906$ ; ** $p=0.009$

[0039] 유의적인 차이(\* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ , 및 \*\*\* $p<0.001$ )가 있는 경우는 굵은 글씨로 나타내었다.

[0040] ANOVA, 변수의 분석; ns(not significant), 통계적으로 유의하지 않음; T, 명암주기

[0041] **3.2 체온**

[0042] 추가적인 실험 증거를 통하여 활동성을 결과를 입증하기 위하여, 본 발명자는 동일한 실험 조건 하에서 체온을 측정하였다.

[0043] 도 3에 나타난 바와 같이, 24시간이 아닌 T 사이클 조건에서는 야생형 쥐의 체온리듬이 24시간의 정상적 생체 주기를 유지하지 못하는 면을 보였다. 24시간 사이클에서, 야생형 쥐는 3~4일까지 비교적 불안정한 체온을 나타냈지만, 이는 앞서 있었던 10일간의 암기 때문인 것으로 예상되었고, 이후에는 그들의 일반적인 활동성 정도와 같은 생체 주기를 나타내었다. 그러나 비-24시간 사이클에서 야생형 쥐는 최초에는 체온의 생체 리듬을 유지하는 것으로 보였으나, 비-24시간 사이클이 유지되면서 점차적으로 생체 리듬을 잃었다. PDK 쥐에서는 체온은 그들의 활동성 정도와 매우 유사하게 나타났고, 야생형 쥐와 비교하여 고점시각에 유의적으로 앞섰다. 평균 체온은 LD 길이와 상관 없이, 거의 유사하였다. 그러나, 도 3D에 도시된 바와 같이, 단주기에서 야생형 쥐 체온의 진폭에서 유의한 감소가 있었다. 단주기에서 20일간 생활한 경우, 체온의 진폭이 약 0.6℃정도 낮아진 것을 볼 수 있었으며, 이는 동조화 기간에 있는 쥐의 체온 진폭의 약 90%에 해당한다.

[0044] 이러한 결과는 생체 시계를 갖고 있는 쥐에서, 체온의 생체 리듬은 점진적으로 약화되고, 생체 주기 교란의 범위는 단 주기에서 더 심각하며, 특히 주기의 진폭에서 그러하다. 상기 표 1에 기재된 바와 같이, 이원 분산분석은 생체 시계와 T 사이클의 상호작용뿐 아니라 T 사이클도 체온 리듬의 진폭에 영향을 미침을 보여준다.

[0045] **실시예 4. 생체 주기 교란 후 3달째의 쥐의 체중 및 음식 섭취 변화**

[0046] 상기 실시예 3에서의 활동성을 확인한 후, 13주령의 쥐는 각각의 T 사이클이 적용된 장기 사육 시설로 옮겨졌다. 각 실험 동물은 죽을 때까지 독립된 공간에서 사육되었다. 체중은 매주 측정하였고, 음식 섭취는 6, 12, 18개월령일 때 4주 동안 측정하였다. 대사성 우리(metabolic cage)(Jeungdo, Seoul, 한국)에서 2주 동안 사육한 후, 50g의 음식물이 공급되었고, 섭취하고 남은 음식의 무게를 그 주가 끝났을 때 측정하였다. 실험 군들 간에 LD 환경(regimens)이 다르기 때문에, 주간 측정치는 광기(light period) ± 일(days)로 조정되었고, 일 평균 섭취량을 산출하였다.

[0047] **4.1 체중**

[0048] T 사이클을 조작한 경우는 체중에 있어서 장기적인 영향이 있었다. 본 발명자는 3개월령 부터 상당 비율의 PDK 쥐가 죽은 시점인 21개월령까지의 기간 동안 매주 체중을 측정하였다. 도 4에 도시된 바와 같이, PDK 쥐의 체중은 야생형 쥐에 비하여 초기에는 높게 나타났으나, 이러한 경향이 계속 유지되지는 않았으며, 체중의 최고치는 그룹들 간에 큰 차이를 보였다. T=24 시간인 경우, PDK 쥐의 최고 체중은 야생형 쥐의 체중에 비하여 유의적으로 낮았다. T=24 시간이 아닌 경우에는, 야생형 쥐의 경우에는 장주기에서만 최고 체중이 증가하였고, PDK 쥐는 단주기 및 장주기 모두에서 최고 체중이 증가하였다. 이원 분산분석을 통해 볼 때, 생체 내부 시계 및 T 사이클의 상호 작용은 아니지만, 각각은 체중 조절과 연관되어 있음을 알 수 있었다(표 1). 이는 체중은 생체 내부 시계 및 LD 사이클에 의하여 독립적으로 조절됨을 의미하였다.

[0049] **4.2 음식 섭취**

[0050] 상기 실시예 4.1의 결과의 원인을 살펴보기 위하여, 6, 12, 18개월령일 때 4주간의 음식 섭취 양을 측정하였다.

6개월령의 경우, PDK 쥐가 야생형 쥐에 비하여 음식 섭취량이 월등히 많았으나, 통계학적으로 T 사이클의 길이의 영향은 없는 것으로 나타났다. 음식 섭취에 있어서 T 사이클의 영향은, 12개월령일 때 관찰되었고, 대부분의 실험 그룹이 그들의 최고 체중을 나타낸 18개월령일 때까지 유지되었다(도 4D). 생체 시계의 기능 및 T 사이클은 음식 섭취에 부가적으로 영향을 미쳤다. 이원 분산분석을 통하여 생체 시계의 기능 및 T 사이클은 이들의 상호 작용에 의하지는 않지만 각각이 음식 섭취에 중요한 영향을 미침을 알 수 있었다(표 1). 이러한 결과는 음식 섭취는 생체 시계 및 LD 사이클에 의하여 독립적으로 제어됨을 보여주었다.

[0051] 또한, 음식 섭취와 체중간의 상호 관련이 없음을 알 수 있었고, 특히 야생형 쥐가 단주기 조건에 있을 때 특히 그러했다. 이 쥐는 다른 야생형 쥐에 비하여 더 많은 음식물을 섭취하였으나(도 4D), 다른 야생형 쥐와 비교하여 비슷하거나 더 낮은 체중을 유지하였다. 이러한 쥐들의 리듬의 진폭이 감소한다는 점과 함께 고려하여 볼 때, 대사 속도 또는 생리 현상이 단주기에 의하여 크게 영향을 받는다는 사실을 알 수 있었다.

[0052] **실시예 5. 생체 주기 교란과 수명**

[0053] 본 발명자들은 생체 내부 시계, LD 사이클 및 이들의 상호 작용이 수명에 미치는 영향을 살펴 보았다.

[0054] 도 5에 도시된 바와 같이, Kaplan-Meier 생존 곡선은 PDK 쥐가 야생형 쥐에 비하여 수명이 짧았고, PDK 쥐의 수명은 T 사이클의 길이에 영향을 받지 않았다. 그러나 야생형 쥐의 경우에는 T 사이클이 짧아진 경우에만 PDK 쥐와 유사한 정도로 수명이 단축되었다. 상기 표 1에 기재된 바와 같이, 이원 분산분석을 통해 볼 때, 생체 내부 시계의 기능과 LD 사이클 모두 쥐의 수명에 영향을 미쳤으며, 생체 내부 시계 및 LD 사이클의 상호작용 또한 쥐의 수명에 큰 영향을 미침을 알 수 있었다. 이러한 결과를 통해 볼 때, 생체 내부 시계와 LD 사이클은 상호 의존적으로 수명에 영향을 미침을 알 수 있었다.

[0055] 또한, 도 6에서는 야생형 쥐의 생체 주기 교란에 따른 체온의 진폭 변화와 수명의 상관 관계를 나타내었다. 추세를 통하여 볼 수 있듯이, 체온의 진폭이 줄어들에 따라 수명이 단축되는 경향을 보였다. 구체적으로, LD 사이클의 길이에 따른 평균 수명 및 체온 진폭 변화의 평균은 하기 표 2와 같이 나타났다. 상기 실시예 3.2에서 기재한 바와 같이, 체온의 진폭은 동조화 기간의 쥐에 비하여 10% 감소한 수치를 보였고, 하기 표 2에서 나타난 바와 같이 평균 수명은 약 20% 단축되었다.

**표 2**

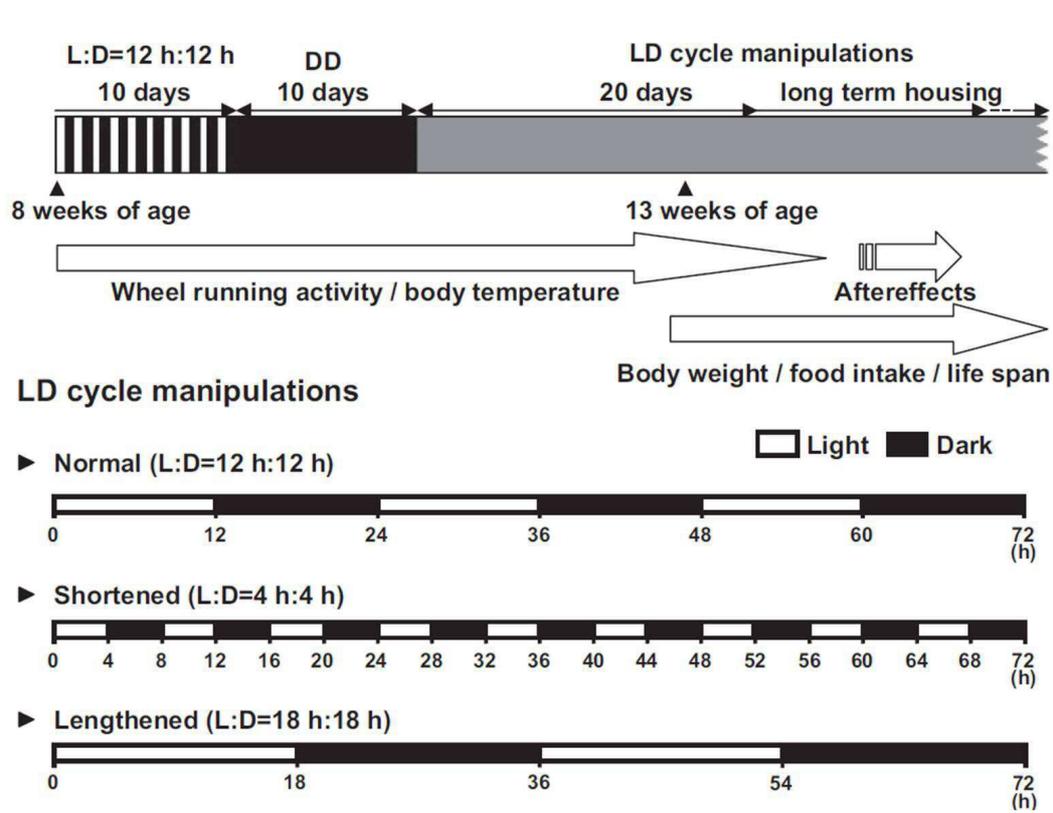
[0056]

	평균 수명(월)	체온의 진폭 변화의 평균(℃)
T=24	29.9	0.17
T=8	24.4	-0.57
T=36	29.6	-0.04

[0057] 이를 통하여 볼 때, 체온의 진폭 변화량이 생체 시계가 교란되었는지 여부를 판단할 수 있는 지표로 사용될 수 있음을 알 수 있다.

도면

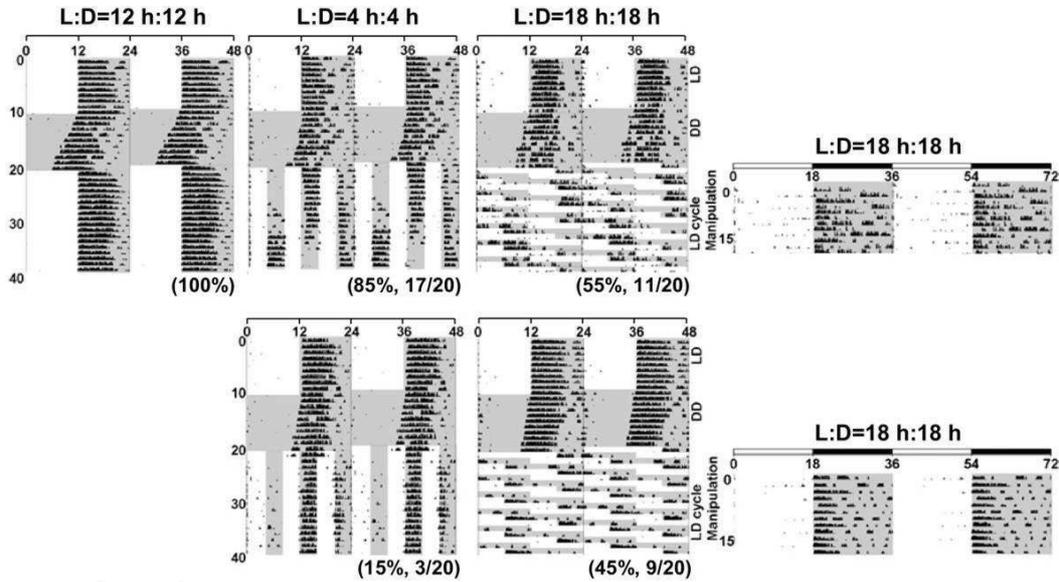
도면1



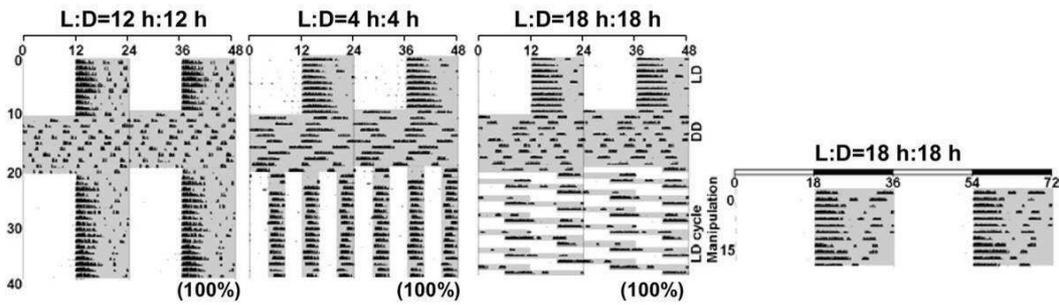
도면2

A.

Wild type

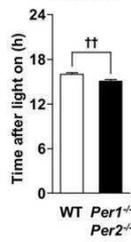


*Per1<sup>-/-</sup>Per2<sup>-/-</sup>*



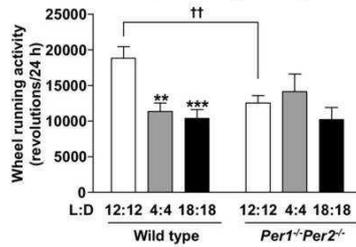
B.

Acrophase



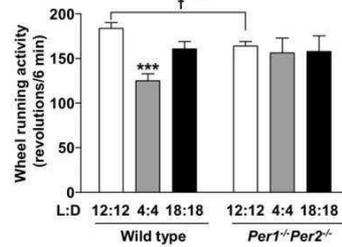
C.

Wheel running activity

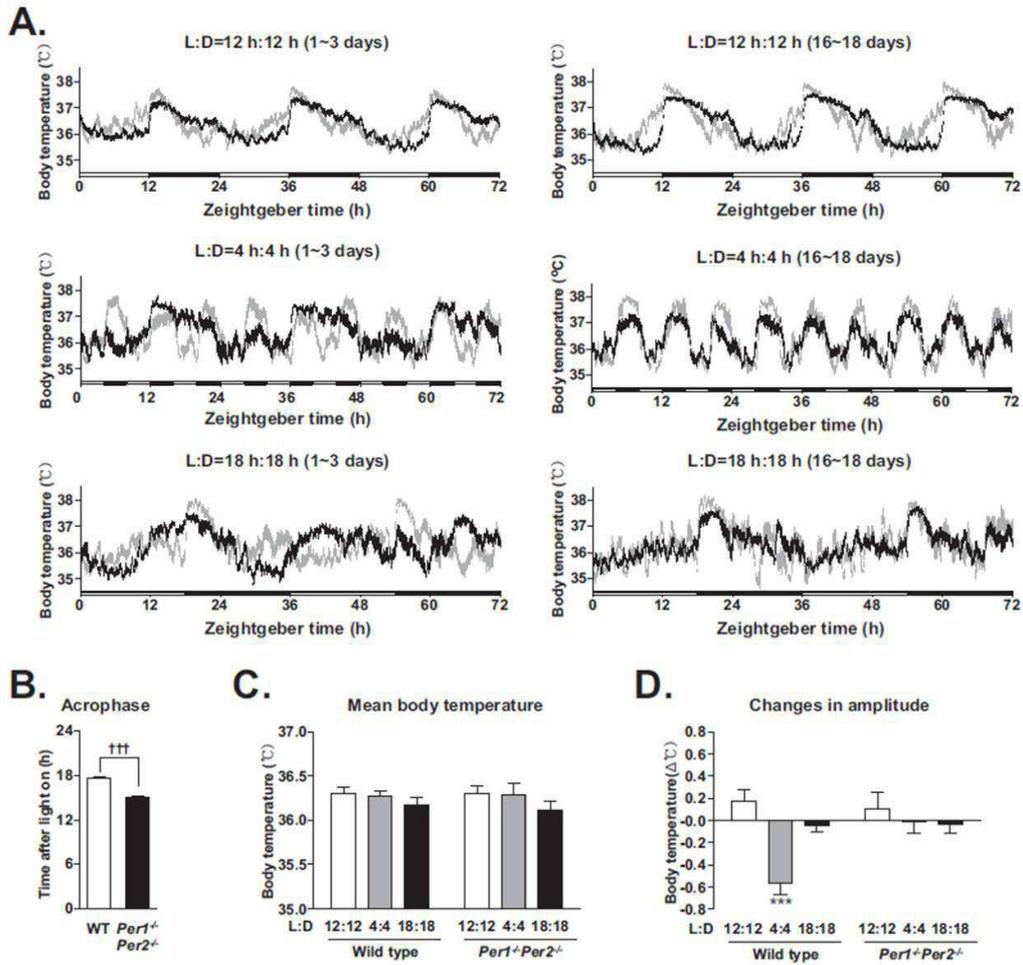


D.

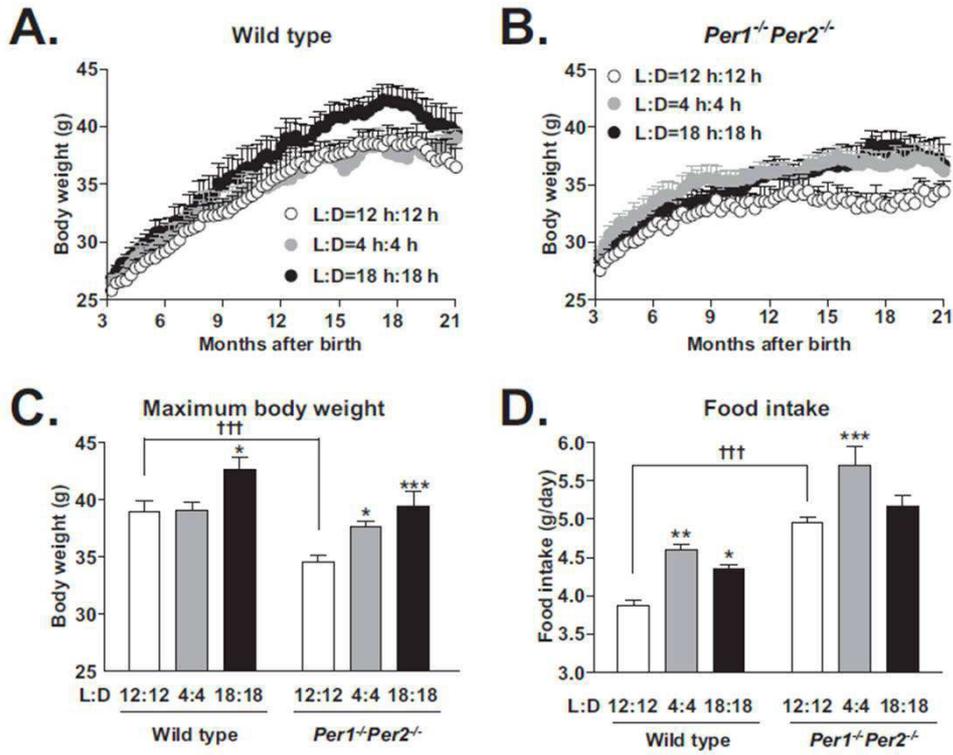
Amplitude



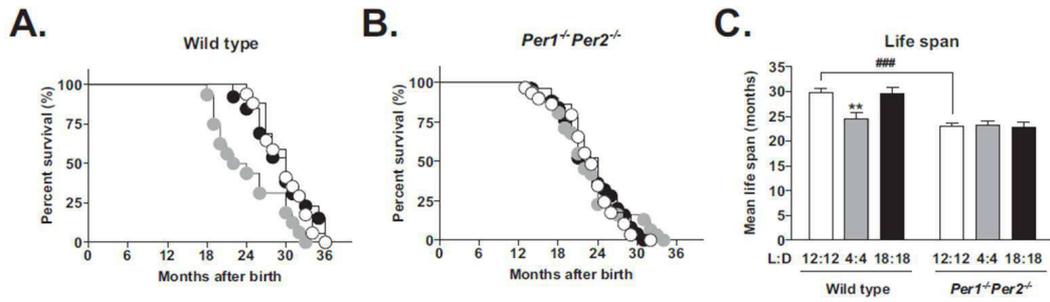
도면3



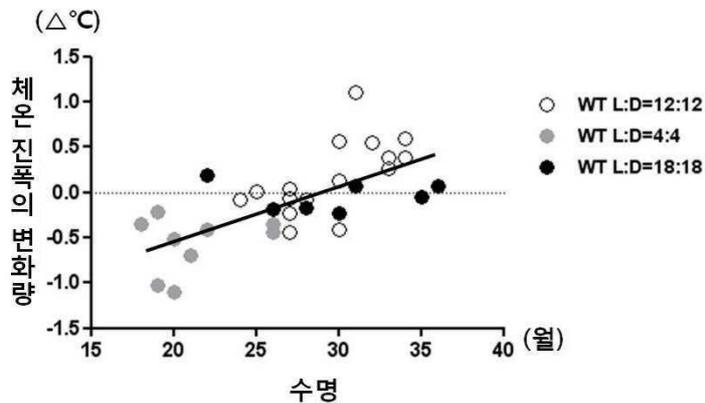
도면4



도면5



도면6



专利名称(译)	发明名称：用于判断活体时钟的干扰的方法		
公开(公告)号	<a href="#">KR101361577B1</a>	公开(公告)日	2014-02-11
申请号	KR1020120097354	申请日	2012-09-03
[标]申请(专利权)人(译)	首尔大学校产学协力团		
申请(专利权)人(译)	首尔国立大学产学合作基金会		
当前申请(专利权)人(译)	首尔国立大学产学合作基金会		
[标]发明人	KIM KYUNG JIN 김경진 PARK NO HEON CHEON SOL MI SON GI HOON 손기훈 CHO SE HYUNG 조세형		
发明人	김경진 박노헌 천솔미 손기훈 조세형		
IPC分类号	A61B5/01 A61B5/00		
CPC分类号	A61B5/01 A61B5/1118 G16H10/60 G16H50/30 G16H50/50		
代理人(译)	KIM, MOON-JAE LEE, JONG-SEUNG Kwon亨俊		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种判断慢性昼夜节律紊乱的方法。通过本发明，根据生物节律的变化，活动的变化，食物摄入的变化，体重的变化或活动的幅度变化来确定慢性昼夜节律的干扰是否来自体热的幅度变化。可以预测的是，由于它们有可能减少寿命，这会对健康产生不利影响。

